

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.

特表平6-502426

第3部門第2区分

(43)公表日 平成6年(1994)3月17日

(51)Int.Cl.⁵A 6 1 K 37/66
37/02

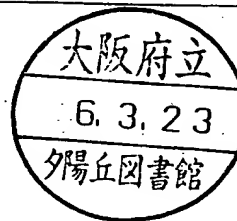
識別記号

ADV G 8314-4C

ADU 8314-4C

庁内整理番号

F I



審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 11 頁)

(21)出願番号 特願平4-500755
 (86)(22)出願日 平成3年(1991)10月15日
 (85)翻訳文提出日 平成5年(1993)4月16日
 (86)国際出願番号 PCT/US91/07722
 (87)国際公開番号 WO92/06707
 (87)国際公開日 平成4年(1992)4月30日
 (31)優先権主張番号 599, 206
 (32)優先日 1990年10月17日
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 722, 922
 (32)優先日 1991年10月15日
 (33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 アムジエン・インコーポレーテッド
 アメリカ合衆国、カリフォルニア・91320
 -1789、サウザンド・オークス、デハビル
 ランド・ドライブ・1840
 (72)発明者 ブラット、ローレンス・エム
 アメリカ合衆国、カリフォルニア・93003、
 ベントラ、ノース・ブレント・ストリー
 ト・389
 (72)発明者 テイラー、ミルトン・ダブリュ
 アメリカ合衆国、インディアナ・47401、
 ブルーミントン、ブラウン・リッジ・ロー
 ド・3712
 (74)代理人 弁理士 川口 義雄 (外2名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 細胞増殖疾患治療用組成物及び方法

(57)【要約】

コンセンサスヒト白血球インターフェロンを用いた細胞増殖疾患の治療方法を開示する。同時に、コンセンサスヒト白血球インターフェロン医薬組成物を開示する。

1. 哺乳類の細胞増殖疾患の治療方法であって、該方法が治療上有効量のコンセンサスヒト白血球インターフェロンの投与を含む前記方法。
2. 前記細胞増殖疾患が毛細胞白血病である請求項1記載の方法。
3. 前記細胞増殖疾患がカポジ肉腫である請求項1記載の方法。
4. 前記コンセンサスヒト白血球インターフェロンが $IFN-con_1$ 、 $IFN-con_2$ 及び $IFN-con_3$ からなる群から選択される請求項1記載の方法。
5. 前記コンセンサスヒト白血球インターフェロンが $IFN-con_1$ である請求項4記載の方法。
6. 前記コンセンサスヒト白血球インターフェロンが原核細胞による外因性 DNA 配列の発現産物である請求項1記載の方法。
7. 治療上有効量の投与経路が静脈、筋肉、皮下又は浸透経路である請求項1記載の方法。
8. 前記コンセンサスヒト白血球インターフェロンの治療上有効量が、患者一人当たり $2 \times 10^6 \sim 50 \times 10^6$ 単位である請求

17. 請求項12の組成物であって、該組成物が注射用溶液又は凍結乾燥粉末として供給されるものである組成物。

18. 請求項12の組成物であって、さらに治療上有効量の G-CSF、GM-CSF、IL-1、IL-3、又は SCF を含んでなる組成物。

項1記載の方法

9. 前記哺乳類がヒトである請求項1記載の方法。

10. 治療上有効量の化学療法剤の投与をさらに含む請求項1記載の方法。

11. 治療上有効量の G-CSF、GM-CSF、IL-1、IL-3、又は SCF の投与をさらに含む請求項1記載の方法。

12. 治療上有効量のコンセンサスヒト白血球インターフェロン、並びに薬理的に許容される希釈剤、アジュバント、キャリアー、保存剤及び／もしくは可溶化剤を含んでなる組成物。

13. 前記コンセンサスヒト白血球インターフェロンが $IFN-con_1$ 、 $IFN-con_2$ 及び $IFN-con_3$ からなる群から選択される請求項12記載の組成物。

14. 前記コンセンサスヒト白血球インターフェロンが $IFN-con_1$ である請求項13記載の組成物。

15. 前記コンセンサスヒト白血球インターフェロンが原核細胞による外因性 DNA 配列の発現産物である請求項12記載の組成物。

16. 請求項12の組成物であって、該組成物が静脈、筋肉、皮下又は浸透経路からの投与に適するものである組成物。

明 細 書

細胞増殖疾患治療用組成物及び方法

本発明は細胞増殖疾患をコンセンサスヒト白血球インターフェロンを用いて治療する方法に関する。発明はまた、細胞増殖疾患の治療に適するコンセンサスヒト白血球インターフェロン医薬組成物に関する。

発明の背景

インターフェロンは抗ウイルス及び抗細胞増殖の両方に活性を示すサイトカインのサブクラスである。生化学及び免疫学的性質を基礎として、ヒトインターフェロンは3のサブクラスに分類される。即ち、インターフェロン- α （白血球）、インターフェロン- β （繊維芽細胞）及びインターフェロン- γ （免疫系）である。

異なるアミノ酸配列を有する14の α インターフェロン（サブタイプAからHに分類される）がこれらのポリペプチドをコードするDNAを単離及び配列決定することで同定された。 α インターフェロンは、その抗ウイルス及び抗腫瘍成長阻害能のため潜在的治療薬剤成分として多大な注目を受けている。全血のbuffy coat 分画より単離したヒト白血球由来のインター

フェロンの精製について米国特許第4,033,035号明細書に記載されている。この手法で調製されるヒト白血球インターフェロンは、異なるヒト白血球インターフェロンアミノ酸配列の混合物である。精製された物質はMDS1ウシ細胞株による評価で $0.9 \times 10^5 \sim 4 \times 10^5$ 単位/μgタンパクの比活性を、A5712ヒト細胞株による評価で $2 \times 10^5 \sim 7.6 \times 10^5$ 単位/μgタンパクの比活性を有する。インターフェロン抗ウイルス活性の測定に用いた細胞変性作用阻害評価が米国特許第4,211,174号明細書に開示されている。測定されたインターフェロン活性はヒト白血球インターフェロン (National Institutes of Health提供) 標準対象を基準とされていた。

少なくともヒト白血球インターフェロンの一部をコードする配列を含有する組み換えDNAプラスミドの構築、並びに免疫学的もしくは生物学的な、ヒト白血球インターフェロンの活性を有するポリペプチドの E. coli 中の発現が米国特許第4,530,901号明細書に開示されている。異なるサブタイプ配列の結合 (例えば、AとD、AとB、及びAとF) を含有する混成αインターフェロン遺伝子の構築が米国特許第4,411,150号、4,456,748号、及び4,678,751号明細書中に開示されている。

al. Arch. Biochem. Biophys. 276, 531-537 (1990)]。

αインターフェロンは米国及び他の国々で毛細胞白血病、尖形コンジローム、カポジ肉腫 [後天性免疫不全症候群 (AIDS) に罹患した患者に一般に見られる癌]、及び慢性非A非B肝炎の治療に一般に承認されている。2つのαインターフェロン変異体が治療用に承認受理されている。1つはインターフェロンアルファ-2a (商品名 ROFERON-A)、もう1つはインターフェロン-2b (商品名 INTRON-A) である。

ROFERON-A及びINTRON-Aのアミノ酸配列は1カ所が異なる他はαインターフェロンサブタイプ2 (サブタイプA) のアミノ酸配列と一致する。

この符號適用に加えて、αインターフェロンは単独もしくは化学療法剤との併用により、慢性骨髄性白血病、多発性骨髄腫、表在性膀胱癌、皮膚癌 (基底細胞癌もしくは悪性黒色腫)、腎細胞癌、卵巣癌、低分化リンパ球及び皮膚T細胞リンパ腫、並びに神経膠腫を含めた様々な他の細胞増殖疾患に使用もしくは検討され続けている。αインターフェロンは他の化学療法剤との併用により肺に発生した固形癌、結腸 (colorectal) 及び乳癌の治療に有効であると思われる [Rosenberg et al.

米国特許第4,623号、及び4,897,471号明細書には天然に存在するαインターフェロンサブタイプポリペプチドの各部位に見られる共通又は主要なアミノ酸を含むアミノ酸配列を有する新規ヒト白血球インターフェロンポリペプチドが開示され、コンセンサスヒト白血球インターフェロン (IFN-con) として言及されている。開示されたIFN-conアミノ酸配列はIFN-con₁、IFN-con₂、IFN-con₃ と呼ばれる。IFN-conをコードする合成遺伝子の調製及び該遺伝子の E. coli 中の発現もまた開示されている。

E. coli 中で産生したIFN-con₁ の精製は Kleinらの記述がある [J. Chromatog. 154, 205-215 (1988)]。この手法で精製したIFN-con₁ は、T88Gヒト細胞株を用いた細胞変性作用阻害評価の測定で 3×10^5 単位/μgタンパクの比活性をもつことが報告されている [Fish et al. J. Interferon Res. 9, 97-114 (1989)]。精製IFN-con₁ は等電点分離法により決定される3つのアイソフォームよりなり、メチオニルIFN-con₁、des-メチオニルIFN-con₁、及びN-末端にアセチル基が付いたdes-メチオニルIFN-con₁ として同定されている [Klein et

"Principles and Applications Biologic Therapy" in Cancer: Principles and Practices of Oncology, 3rd ed., DeVita et al., eds. pp. 301-547 (1989), Salner DICP, Ann Pharmacother 24, 761-768 (1990) 参照]。

αインターフェロンはDNA複製並びにRNA及びタンパク合成を含む様々な細胞機能に正常、異常細胞を問わず作用することが知られている。この様に、インターフェロンの細胞毒効果は腫瘍又はウイルス感染細胞に制限されることなく正常、健康細胞にも同様に表れる。その結果、望まぬ副作用がインターフェロン治療中、特に大量投与が要求される際に起こる。インターフェロンの低濃度投与は骨髄抑制の悪化が避けられず、赤血球、白血球及び血小板レベルの減少を引き起こす。インターフェロンの大量投与は流感様症候 (例えば熱、疲労感、頭痛及び悪寒)、胃腸管疾患 (例えば食欲不振、嘔吐及び下痢)、眩暈並びに咳を誘起するのが一般である。インターフェロン治療の望まぬ副作用を、それら療法の治療効果を減ずることなく減少又は除去することが望まれていた。

従って、本発明の1つの目的は細胞増殖疾患 (例えば毛細胞白血病又はカポジ肉腫) のIFN-conによる治療であって、

関連する望ましからぬ副作用が一般に行われている治療法に比較して減少又は完全に除去されているものである。また、発明の目的はIFN-conによる細胞増殖疾患の治療効果を一般に行われている治療法に比較して促進し、かつ相当する望ましからぬ副作用の頻度又は苛酷さの増加を伴わないものである。

発明の要約

本発明は哺乳類へ治療上有効量のコンセンサスヒト白血球インターフェロン(IFN-con)を医薬投与することを含む細胞増殖疾患の治療方法を包含するものである。IFN-conがINTRON-Aよりも高い抗細胞増殖性活性を有することが示された。その結果、IFN-conを用いた細胞増殖疾患の治療では、現在実施されている他のインターフェロン治療に比較して効果及び安全性が優れていることが示された。特に、治療上有効量のIFN-conの投与によって、現在行われている方法に比較して、より早く又はより広域な細胞増殖疾患の治療結果が得られ、かつ関連する望ましからぬ副作用の頻度又は苛酷さの相当量の増加を伴わずして達成される。さらに、治療上有効量のIFN-conは現在行われる方法で用いられるインターフェロンの量よりも少ないと思われる。その

結果、投与量を減してもIFN-conは他のインターフェロンの、より高い投与時と同じ治療効果が得られるが、一般に行われるインターフェロン治療に関連する望ましからぬ副作用は抑制又は除去されている。

IFN-conは癌と頻繁に関連する細胞増殖疾患の治療に有効である。この様な疾患は毛細胞白血病及びカポジ肉腫を含むがこの限りではない。IFN-conは単独、又は癌及び他の細胞増殖疾患の治療のための他の治療法と併用して使用できる。好ましい具体例では、IFN-conは治療上有効量の少なくとも1つ以上の、骨髄細胞増殖又は分化刺激因子[例えば、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、顆粒球/マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)、インターロイキン-1(IL-1)、インターロイキン-3(IL-3)、インターロイキン-6(IL-6)、エリスロポエチン、及び幹細胞因子(SCF)]と併用して用いる。

IFN-conは抗細胞増殖性活性を有する天然には存在しないポリペプチドである。好ましくは、IFN-conはIFN-con₁、IFN-con₂、又はIFN-con₃のアミノ酸配列を有するポリペプチドである。最も好ましい

IFN-conはIFN-con₃のアミノ酸配列を含有するものである。

発明はまた、治療上有効量のIFN-conを適当な希釈剤、アジュバンド、キャリアー、保存剤、並びに/又は可溶化剤と伴に含む医薬組成物にも関する。

図面の簡単な説明

図1から7は、IFN-con₁及びINTRON-A(比較物質)の毛細胞白血病細胞株Eskolにおける抗細胞増殖性活性(インターフェロンをEskol細胞懸濁液にそれぞれ0.1、0.5、1、5、10、50、及び100µg/mlづつ加えた時の)を示す。

図8はINTRON-A、IFN-con₁、又はIFN-con₁及びr-melGCSFで治療したカポジ肉腫患者のMTD₁の初期及び継続中間値を示す。

発明の詳細な説明

ここで言うコンセンサスヒト白血球インターフェロン(IFN-con)とは天然には存在しないポリペプチドを意味し、そのポリペプチドには天然に存在するあらゆるのヒト白血球インターフェロンサブタイプ配列と共通のアミノ酸残基が

優先的に含まれ、かつ全てのサブタイプに共通のアミノ酸を有することのない少なくとも一つ以上のそれらの部位において、その部位に優先的に存在する一つのアミノ酸を含み、そしていかなる場合にも、少なくとも一つの天然のサブタイプ中のその部位には存在しないアミノ酸残基は一切含まないポリペプチドである。IFN-conは米国特許第4,695,623号及び第4,897,471号明細書中にそれぞれ開示されているIFN-con₁、IFN-con₂、IFN-con₃で示されるアミノ酸配列を網羅するがこれに限定されるものではない。これら特許の全開示を本明細書中に参照する。IFN-conをコードするDNA配列は上記特許に記載されるように合成される。

IFN-conポリペプチドは細菌宿主中、特にE. coli. 中で形質転換又はDNA感染(transfect)された合成DNA配列の発現生成物である。すなわち、IFN-conは組み換え物である。E. coli. 中で生成したIFN-conは当業者に公知の手順及び刊行物(Kleis et al. *supra* (1988) for IFN-con₁)記載の手順により精製される。精製したIFN-conは、アイソフォームの混合物からなる、例えば精製IFN-con₁はメチオニルIFN-

con₁、des-メチオニルIFN-con₁、及びN末端が保護されたdes-IFN-con₁ (Klaia et al., supra (1990)) の混合物からなる。或いは、IFN-con は特異的に単離されたアイソフォームからなる。

IFN-conのアイソフォームは当業者に公知の当電点分離法などの技術によって互いに分けられる。

本発明は治療上有効量のIFN-conを投与することを含む細胞増殖疾患の治療方法を提供するものである。発明の好ましい具体例は治療上有効量のIFN-con₁、IFN-con₂、IFN-con₃を投与することを含む方法である。最も好ましくは、治療上有効量のIFN-con₁が投与される。

IFN-conは様々な細胞増殖疾患、特に様々なガンの治療に有効である。それら疾病とは毛細胞白血病、カポジ肉腫、慢性骨髄性白血病、多発性骨髄腫、表在性膀胱癌、皮膚癌（基底細胞癌もしくは悪性黒色腫）、腎細胞癌、卵巣癌、低分化リンパ球及び皮膚T細胞リンパ腫、並びに神経膠腫を含むが、この限りではない。

IFN-conは単独、又はガン及び他の細胞増殖疾患の他

の治療剤との併用いられる。IFN-conは治療上有効量の少なくとも一つ以上の化学療法成分、例えばブスルファン、5-フルオロウラシル (5-FU)、ジドバジン (AZT)、leucovorin、メルファラン、ブレドニゾン、シクロホスファミド、デカブバジン、シスプラチン、及びジビリダモールとの併用で投与される。IFN-conはまた、例えばインターロイキン-2 (IL-2) の様なサイトカインと併用してもよい。

治療上有効量のIFN-conは、インターフェロン治療時に観察される骨髄抑制効果を克服するために、治療上有効量の少なくとも一つ以上の骨髄分化を刺激する因子と併用して投与しても良い。それら薬剤成分にはG-CSF、GM-CSF、IL-1、IL-3、IL-6、エリスロポエチン及びSCFが含まれるがこの限りではない。幹細胞因子 (SCF) は造血前駆細胞の細胞増殖性を刺激し、ここに参照した米国特許出願第513,616号明細書中に記載されている。実施例においてIFN-con₁が毛細胞白血病及びAIDS関連性カポジ肉腫に対する抗細胞増殖性成分として有効であることが分かる。

IFN-con₁及びINTRON-AのEskol細胞、毛細胞白血病細胞株における抗細胞増殖性活性を実施例1に示

した。IFN-con₁がINTRON-Aよりも高い抗細胞増殖性活性を広い濃度範囲わたって有することが分かる。IFN-con₁とROFERON-Aを比較した時にも類似の結果が得られた。これらの結果はIFN-con₁がより高い治療効果を同濃度のINTRON-Aを医薬投与した時よりも発揮することを示す。あるいは、より低い濃度のIFN-con₁でINTRON-Aとの同等の治療効果を得ることを意味する。

実施例2にIFN-con₁及びINTRON-AによるAIDS関連性カポジ肉腫治療の比較研究を記述する。IFN-con₁を服用する患者は、INTRON-Aを服用する患者よりもより高単位数を服用できることが分る。更に、IFN-con₁及びG-CSFの両方を服用する患者はIFN-con₁単独を服用する患者よりも、より高い単位数を服用できる (図8を見よ)。この研究に於いてHIV感染の治療の中で、全ての患者はAZTを服用する。AZTの単独投与はカポジ肉腫には無効である。

IFN-con₁はIFN-con₁が医薬投与された時の3級毒性の頻度減少評価によりINTRON-Aよりも安全

性が高いとされている。IFN-con₁を用いた治療はINTRON-A治療に比較して好中球減少症及び肝機能障害の発生率が減少していることがわかる。また、IFN-con₁及びr-metG-CSFによる治療は完全に3級毒性を取り除いている (表2. を見よ)。

また、治療上有効量のIFN-conを薬学的に許容されるキャリアー、アジェバンド、希釈剤、保存剤及び/又は可溶化剤と併に含む医薬組成物としても供給される。

IFN-conの医薬組成物は様々なpH領域及びイオン強度を有するバッファー (例えば、Tris-HCl、アセテート、ホスフェート)、キャリアー (例えば、ヒト血清アルブミン)、可溶化剤 (例えば、lecithin、polyorbate) 並びに保存剤 (例えば、thimerosal、benzylalcohol) を含んでいる。一般に、医薬組成物の構成成分は、インターフェロン及び抗細胞増殖性成分と併に一般に使用され当業者に公知の物から選択できる。IFN-conの医薬組成物は注射用溶液、又は注射前に適切に希釈して再構成する凍結乾燥粉末として供給される。

IFN-conの治療上有効量とは変数 (IFN-con製剤の半減期、投与経路、試験対象となる細胞増殖疾患) を考

成することで当業者によって決めることができる。一般に、細胞増殖疾患治療のためのIFN-conの治療上有効量は、 $2 \times 10^6 \sim 40 \times 10^6$ 単位/患者、数回投与/一週間の範囲となるであろう。低い領域の投与量が毛細胞白血病の治療に有効である一方、高い領域の投与量はカポジ肉腫の治療に適している。IFN-conの治療上有効量は、癌の特異型にもよるが、少なくとも6か月の期間で20~30%の腫瘍寛解が期待される。

医薬投与経路は哺乳動物の血液中への注射することが好ましいが、注射部位は静脈内、筋肉内、皮下もしくは局所内が良い。該医薬組成物の投与経路の妥当性は当業者にとって明らかであろう。発明の詳細説明のため次の実施例を提供するが発明はこの範囲に限定されるものではない。

実施例1

IFN-con₁ 及びINTRON-Aの抗細胞増殖性活性

IFN-con₁ 及びINTRON-Aの抗細胞増殖性活性をEskol細胞株、Dr. E. SroogによりIndiana University Medical Schoolにて単離された毛細胞白血病細胞で試験した。

3 mlのEskol細胞株培養液を10%ウシ胎児血清を含むRPMI培地(Gibco)中で37℃、5%CO₂下において、12時間 1×10^5

インキュベーション後、200μlの細胞懸濁液を採取し、37℃で3時間、5 μCi/mlの³H-チミジン(Amersham)の存在下でインキュベートした。細胞はCambridge cell harvester (Cambridge Technology)を用いて収集し、蒸留水で7回、95%エタノールで2回洗浄し³H-チミジン取り込み量を液体シンチレーションカウンターで測定した。IFN-con₁ 又はINTRON-Aの存在下で120時間インキュベートしたEskol細胞の³H-チミジン取り込み量結果は細胞生育力測定結果に比例した。

実施例2

カポジ肉腫(KS)患者へ医薬投与したIFN-con₁の安全性、耐性及び効能

IFN-con₁ 及びINTRON-Aの安全性及び耐性を評価、並びに最大耐量(MTD)を決定するため、無作為、オープンラベル試験を実施した。IFN-con₁ 及びINTRON-Aをジドバジン(AZT)との併用でAIDS関連KS患者にそれぞれ医薬投与した。さらに、AZT及びE. coliに産生させた、ポリペプチドのアミノ末端にメチオニン残基を有する組み換え顆粒球コロニー刺激因子(r-metGCSF)との複合医薬投与の原

細胞/mlでインキュベートした。IFN-con₁ 又はINTRON-A (Schering社インターフェロンα2b)を最終タンパク濃度が0.1~100 μg/mlとなるように100 μlの培地に添加した。

IFN-con₁ のタンパク濃度はBradford protein assay法(Bradford, Anal. Biochem., 12, 248~254 (1976))により測定する一方、INTRON-Aは比活性(2×10^8 国際単位/μgタンパク)及び製造元より供給される単位濃度より計算した。

生育細胞数を24時間ごとにトリパンブルー(Sigma)色素排除試験により測定した。24時間ごとにIFN-con₁ 又はINTRON-A 100 μlを最終濃度を示す標に加えた。生育細胞数は二重の試料を用いた4回の個別の実験の平均である。細胞数変動は約5% (24時間~48時間) から約2% (その時間以降)の範囲内であった。図1~7に示される結果は、インターフェロン添加有無における生育細胞数の比を異なる時間でパーセンテージで表している。生育細胞数はIFN-con₁ 又はINTRON-Aの存在下でインキュベートしたEskol細胞への³H-チミジンの取り込みを測定して確認した。120時間の

のIFN-con₁の安全性、耐性及びMTDを測定した。3つの治療群は次の通りである。

1. INTRON-A及びAZT
2. IFN-con₁ 及びAZT
3. IFN-con₁、AZT及びr-metGCSF

それぞれの治療群には少なくとも12人の評価可能な患者が含まれている。

A. 生成物の説明

IFN-con₁ はE. coli中で、米国特許第4,695,623及び4,897,471号明細書に記載の方法で産生させた。IFN-con₁ は刊行物(Klein et al., supra (1988))に記載の手順で精製した。本試験が皮下投与方法であるため、IFN-con₁ は無菌的にタンパクのリン酸ナトリウムバッファー溶液として供給した。必要ならば、希釈は無菌塩水で行う。ジドバジン(AZT)はBurroughs-Wellcome Co.から購入し、容器に直接注入して使用した。INTRON-AはSchering Corp.から、希釈剤を容器に直接注入し懸濁させられる無菌的凍結乾燥の形態で購入した。r-metGCSFはE. coli中で米国特許第4,810,643号明細書(参照文献)に記載の方法で産生させ

た。r-metGCSF は10mM酢酸ナトリウム、5%マンニトール及び0.004% Tween 80 中でpH 7.0 で濃度 0.3mg/ml の無菌的タンパク溶液として調製した。必要ならば、希釈は無菌的5%グルコース水溶液(D5W)で行った。

B. 用量及び用法

AZT. AZTは全患者に、患者が起きている間に固定量 100mgを4時間ごとに合計5回か又は 500mgを毎日経口投与した。

r-metGCSF. 無作為的にr-metGCSFを含有する治療法群に選定した患者たちに、r-metGCSFを一日当たりに1 μ g/体重1kgの投与量で、一度に全量を皮下投与した。必要ならば、この用量を増加分1 μ g/kg/dayずつ適切に増量(6 μ g/kg/dayを超えない様に)又は0.5 μ g/kg/day以下の減量分ずつ適切に減量し、有核好中球数(ANC)が目標範囲 5,000~15,000/ μ lとなるようにした。

インターフェロン 患者はIFN- γ 又はINTRON-Aのいずれかを投与増量計画に従って服用した。用法はどちらのインターフェロンも等量単位に基づいている。しかしながら、二つのインターフェロンの比活性が異なるため(米国特許第4,695,623号明細書記載の抗ウイルス性細胞変性アッセイに

よりINTRON-Aは 2×10^6 IU/mg及びIFN- γ は少なくとも 1×10^6 IU/mgと測定されている。)、タンパクの重量(mg単位)としては、INTRON-AとIFN- γ の投与量においても異なる。実施した投与増量計画を表1に示す。あらゆる投与レベルにおいて、IU数に相当するタンパクの投与mg数もまた、それぞれのインターフェロンについて表1に示す。

表1

INTRON-A及びIFN- γ の投与増量計画

投与 レベル	投与量 10 ⁶ IU	タンパクmg数	
		INTRON-A	IFN- γ
1	3	0.015	0.003
2	9	0.045	0.009
3	12	0.060	0.012
4	15	0.075	0.015
5	18	0.090	0.018
6	21	0.105	0.021
7	24	0.120	0.024
8	27	0.135	0.027
9	30	0.150	0.030

外すことが保証されるまで行なう。

寛解維持療法の間、毒性によってはインターフェロン投与量を2レベル落としても良い。2レベルの減量後はそれ以上のインターフェロン投与量の修正は行なってはいけない。なお減量を求める患者は治療計画から削除する。例外としては、毒性起因投与制限が好中球減少症(ANC $\leq 1000/\mu$ l)おおよそ一週間の間に二日)の発起による時である。この例では患者は治療対象として残されるがインターフェロン投与量を減ずることはなく、r-metGCSF治療を1 μ g/kg体重・日で開始する。投与は皮下法であり対象はr-metGCSFを服用していない患者である。すでにr-metGCSF治療群であった患者にはr-metGCSF投与量は次に高いレベルに増量した(増加量1 μ g/kg/day)。

C. 患者の選定

延べ49人の患者が治験研究に登録された。全ての規準を満たした者及び全ての除外規準から外れた者だけを治験団体として登録した。登録の明確な判断規準は、血清学的にHIV感染が証明される時、認識可能な皮膚もしくは口腔の発疹を伴うカポジ肉腫が組織病理学的に確認される時、免疫機能(CD4リンパ球レベル測定において)が許容できる時、並びにAZT治療を受

前記3つの治療群に属する患者達はIFN- γ 又はINTRON-Aを、投与レベル1で開始して次の高投与量レベルに増量して行くまでに一週間、毎日投与する。投与量増量は8,15,22,29,36,43,50,57日目にそれぞれ行なった。増量はそれぞれの患者がWT0値に到達するまで又はインターフェロンの一日の最大投与量 30×10^6 IUに達するまで続けた。患者個人のWT0値は毒性起因投与制限の手前のレベルの投与量と定義した。

毒性はWorld Health Organizationで確立した規準を用いて[詳細はMiller et al. (Cancer 47, 210~211 (1981))に記載されている]0(無毒性)から4(急性毒性)の階級で表示した。毒性起因投与制限は、少なからずともインターフェロンと関係すると見られる3級または4級の有害事象と定義した。

24時間以内の発熱及び悪寒、疲労感、頭痛もしくは2級以下の毒性はWT0の定義には使用しなかった、ただし患者個人にとってそれが不耐性である場合は別である。

段階増量の完了時に、患者は自身のWT0値量か可能ならば最大投与量の 30×10^6 IUを毎日投与する寛解維持療法を続ける。寛解維持療法は疾病の進行又は他の規準により患者が治験から

けたのが一年以内の時である。

治験対象から患者を除外するための理由の中には、投与量段階増量中に第二回目の3級毒性を惹起した時、患者固有のMTDの設定後及び患者の寛解維持療法中に第三回目の毒性起因投与制限量が発覚した時、又はISの進行もある。

D. IFN-con₁ 及び INTRON-A の MTDs 値の設定

上記の1～9週の治験研究、それに続く寛解維持療法及び適宜の投与量減量からなる投与量増量計画を用いて、三つの治療群のINTRON-A及びIFN-con₁の第一及び一般中間MTD値を設定し図8に示す。どの治療群も15人の患者からなる。

群1 (INTRON-A 及び AZT) は 9×10^6 IU までの投与量増量中に第一MTDに達し、一般MTDは 6×10^6 IU であった。群2 (IFN-con₁ 及び AZT) の第一及び一般MTDは 15×10^6 IU に達した。群3 (IFN-con₁、r-metGCSF 及び AZT) の第一及び一般MTDはそれぞれ 21×10^6 及び 21×10^6 に達した。

治験研究中、明らかにINTRON-A又はIFN-con₁の既投与による毒性と分かり対象から除外された患者はいない。

F. IFN-con₁ 及び INTRON-A 治療効能の決定

抗腫瘍反応 抗腫瘍反応をAIDS Clinical Trials Group (ACTG) Oncology Committee の標準反応規準 (Kron et al., J. Clin. Oncol. 7, 1201-1207 (1989)) により4か月の治療後に評価した。

免疫機能 CD4リンパ球数は6か月の治験研究の間、患者のHIV感染に対する免疫反応を評価するため毎月調べた。

カポジ肉腫発疹及びCD4リンパ球レベルは全ての治療群において同等であった。

* * *

本発明を好ましい具体例によって説明したが、これを変更及び修正することは当業者にとって容易であることが分かる。従って、添付する請求範囲にはそれらと同等の全ての改良発明をも発明の範囲内含むものとする。

E. INTRON-A 及び IFN-con₁ 治療の安全性評価

INTRON-A 及び IFN-con₁ 治療の安全性はインターフェロン投与量の減量を要する有毒作用の可逆性により決定される。結果の要約を表2に示す。

表 2

三つの群の中で投与量減量を誘発した毒性

	INTRON-A	IFN-con ₁	IFN-con ₁ + r-metGCSF
2級	20	70	65
不寛容 (流感様症状)			
3級	10	10	0
好中球減少症			
3級	30	10	0
肝機能試験			

* IFN-con₁ 並びに IFN-con₁ 及び r-metGCSF 治療群のパーセンテージについては、該群中なんら有毒作用を示さず最大投与量の 30×10^6 IU まで到達した患者がいたため 100% まで上がることはない。

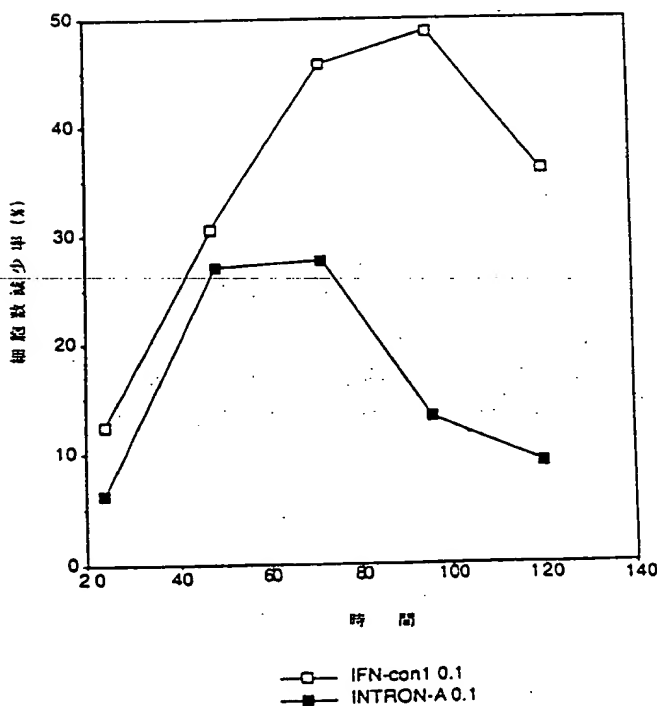


FIG. 1

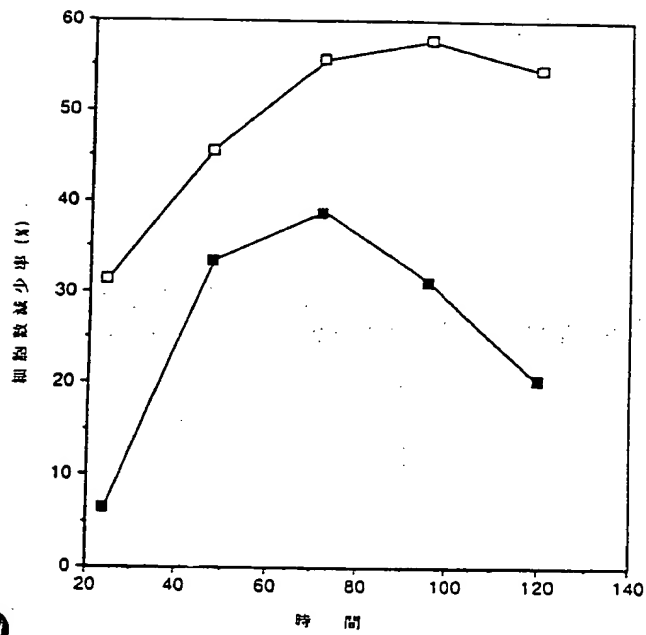


FIG. 2

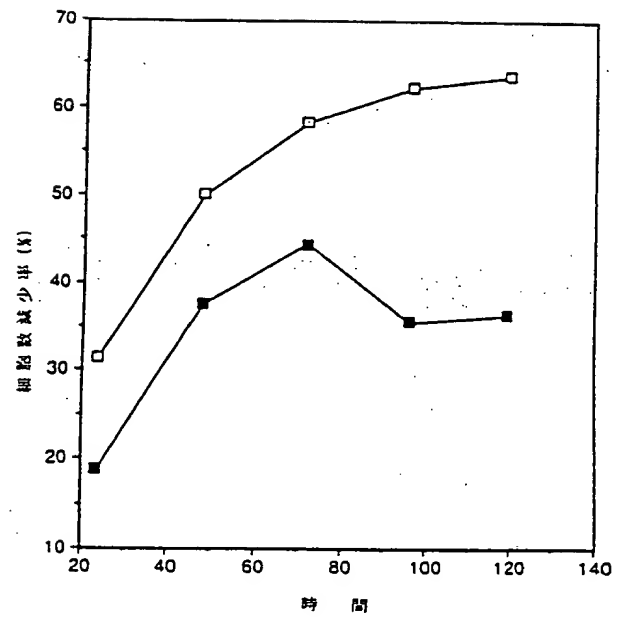


FIG. 3

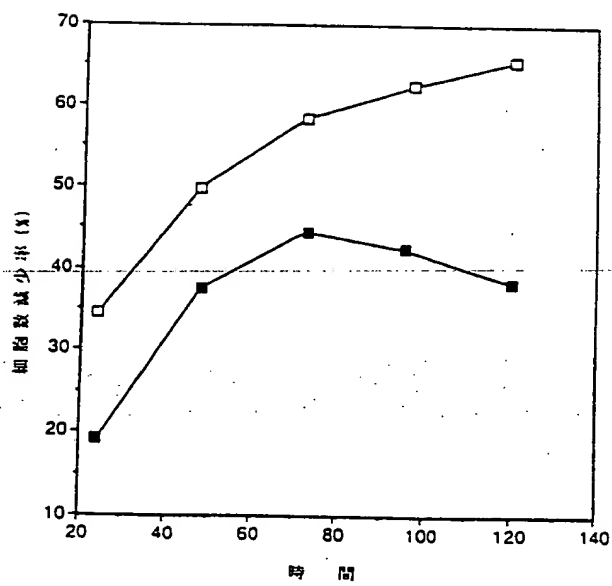


FIG. 4

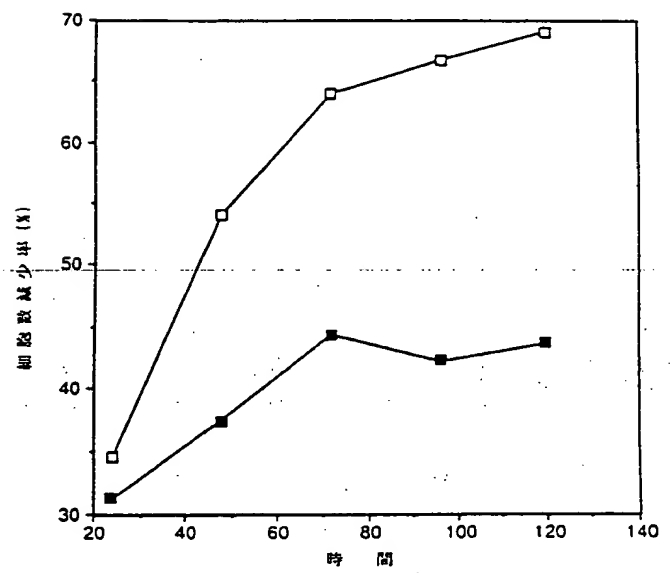


FIG. 5

PCT/US91/07722

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM THE SECOND SHEET

Y	US, A. 4,879,471 "Stabinsky: 28 January 1990, see entire document.	1-18
Y	Nature, Volume 299, Issued 25 March 1981, C.V. Goeddel, et al. "The Structure of eight distinct cloned human leukocyte interferon CDRA5." pages 28-26	1-18

☐ V. OBSERVATIONS WHERE CERTAIN CLAIMS WERE FOUND UNRESEARCHABLE

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2) (a) for the following reasons:

☐ 1. Claim numbers: because they relate to subject matter if not required to be searched by the Authority, namely:

☐ 2. Claim numbers: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements in such a way that no meaningful international search can be carried out in accordance with the provisions of the PCT Rules.

☐ 3. Claim numbers: because they are dependent claims not stated in accordance with the second and third sentences of PCT Rule 4.2.

☐ VI. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application as follows:

☐ 1. As all required additional search fees have been paid by the applicant, the international search report covers all inventions claimed in the international application.

☐ 2. As some parts of the required additional search fees have been paid by the applicant, the international search report covers some inventions of the international application but not all inventions claimed, specifically namely:

☐ 3. No required additional search fees have been paid by the applicant. Consequently, the international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is omitted by search numbers:

☐ 4. All of the inventions claimed should be searched without effect pursuant to an agreement between the International Searching Authority and the applicant.

Remarks on Prior Art:

☐ The additional search fees were submitted by applicant's attorney.

☐ No prior art was found in the course of additional search fees.

Remarks on Prior Art: (P. 14)

フロントページの続き

(81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IT, LU, NL, S, E), AU, CA, FI, JP, KR, NO